

© Коллектив авторов, 2017
УДК 616.831-006-018.84-089.87

А. Ю. Рында, Д. М. Ростовцев, В. Е. Олюшин, Ю. М. Забродская

ФЛЮОРЕСЦЕНТНО-КОНТРОЛИРУЕМАЯ РЕЗЕКЦИЯ ГЛИАЛЬНЫХ ОПУХОЛЕЙ С «ФОТОДИТАЗИНОМ»

Российский нейрохирургический институт им. проф. А. Л. Поленова,
филиал Федерального государственного бюджетного учреждения «Северо-Западного Федерального
медицинского исследовательского центра им. В. А. Алмазова» (дир. — акад. РАН Е. В. Шляхто)
Минздрава России, Санкт-Петербург

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Улучшить результаты и радикальность хирургической резекции глиальных опухолей головного мозга. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** 31 пациенту с глиальными опухолями разной степени злокачественности выполнена флюоресцентно-контролируемая резекция с использованием препарата «Фотодитазин». Оценивалась эффективность, чувствительность и специфичность метода, степень радикальности резекции применительно к хирургии глиом. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Для хирургии глиом Grade I–II чувствительность метода составила 68,3%, специфичность 60,1%. Для хирургии глиом Grade III–IV чувствительность метода — 85,4%, специфичность — 76,2%. Степень достижения GTR (gross total resection) в хирургии глиом Grade I–II — 79,3%, для хирургии глиом Grade III–IV — 95,6%. **ВЫВОДЫ.** Интраоперационная флюоресцентная диагностика с использованием «Фотодитазина» в хирургии глиальных опухолей различной гистологической структуры является высокоэффективным, высокочувствительным и высокоспецифичным методом и позволяет повысить радикальность хирургического удаления глиальных опухолей.

Ключевые слова: флюоресцентно-контролируемая резекция, глиальные опухоли

A. Yu. Rynda, D. M. Rostovtsev, V. E. Olyushin, Yu. M. Zabrodskaya

Fluorescence-guided resection of glioma using «Photoditazin»

A. L. Polenov Russian Neurosurgical Institute, branch of the V.A. Almazov North-Western Federal Medical Research Center, St. Petersburg

OBJECTIVE. The aim of this research was to improve results of gross total resections of glial tumors of the brain. **MATERIAL AND METHODS.** Fluorescence-guided resection was performed in 31 patients with glial tumors of different degree of malignancy. «Photoditazin» was applied during operation. The authors assessed the efficacy, sensitivity and specificity of the method and degree of radical nature of resection in relation to surgery of gliomas. **RESULTS.** Sensitivity of the method numbered 68,3% and specificity was 60,1% in cases of gliomas of grade I–II. It was 85,4% and 76,2%, respectively in cases of gliomas of grade III–IV. The degree of achievement of gross total resection (GTR) was 79,3% (gliomas of grade III–IV) and 95,6% (gliomas of grade III–IV). **CONCLUSIONS.** Intraoperative fluorescent diagnostics using «Photoditazin» was highly effective, sensitive and very specific method in surgery of glial tumors of different degree of malignancy. The method allowed doctors to develop the radical nature of surgery in cases of glial tumors removal.

Key words: fluorescence-guided resection, glial tumors

Введение. Один из главных факторов прогноза при лечении глиальных опухолей головного мозга, помимо возраста, локализации, функционального статуса пациента, степени злокачественности, является также и степень радикальности удаления опухоли [5]. Тотальное удаление глиом — практически невыполнимая задача вследствие инфильтративного роста и зачастую распространения их в функционально значимые зоны [11].

Для идентификации границ глиома/мозг во время операции применяются различные методы. Это, например, интраоперационная нейронавигация, ультразвуковая навигация или МРТ. Резекция опухоли при использовании фотодиагностики — не просто дополнение этих методов, а, вероятно, лучший из них [4, 7, 9]. Многие авторы сообщают, что флюоресцентно-контролируемая резекция повышает радикальность удаления глиомы и улучшает качество жизни пациентов [1, 2].

Использование интраоперационной фотодиагностики глиом имеет ряд преимуществ: более интенсивная визуализация анапластических участков глиом, лучшая дифференцировка тканей при продолженном росте глиом высокой степени злокачественности после предшествующего комбинированного лечения [6]; возможность выявления опухолевых клеток в стенках желудочков даже при отсутствии видимой инвазии в их стенки; увеличение степени резекции опухоли [3]. Положительную оценку эффективности флюоресцентно-контролируемой резекции глиом головного мозга на основании результатов гистоморфологических исследований дали нескольких авторов [8, 12].

Цель исследования — улучшить результаты радикальности хирургической резекции глиальных опухолей головного мозга и определить чувствительность и специфичность метода, для глиальных опухолей с использованием фотосенсибилизатора «Фотодитазин».

Материал и методы. На базе РНХИ им. проф. А.Л.Поленова филиала ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А.Алмазова», в отделении нейроонкологии с октября 2011 г. по декабрь 2015 г. был прооперирован 31 пациент с глиальными опухолями супратенториальной локализации разной степени злокачественности с интраоперационной флюоресцентно-контролируемой резекцией. Для индукции видимой флюоресценции использован отечественный препарат группы хлоринов Е6 второго поколения «Фотодитазин». Оценка опухолей производилась, согласно классификации ВОЗ от 2016 г. [10].

Во время нахождения больного на операционном столе, после вводного наркоза, за 1½–2 ч до предполагаемого удаления опухолевой ткани больному внутривенно вводили препарат отечественного производства «Фотодитазин» (ООО «Бета-Гранд», Россия) с действующим веществом хлорин Е6, разведенный в 200 мл 0,9% раствора хлорида натрия из расчета 1 мг препарата на 1 кг массы тела больного.

«Фотодитазин» избирательно накапливается в ткани опухоли, при этом его концентрация в нормальной ткани мозга остается минимальной, что позволяет по характерной для хлоринов красной флюоресценции идентифицировать опухолевые участки.

Для исследования в свете флюоресценции к операционному микроскопу (LEICA OHS-1, Германия) подключали флюоресцентную приставку отечественного производства (ООО ЛОМО, Санкт-Петербург).

Флюоресцентная картина позволяет с высоким цветовым контрастом определить опухолевую ткань, накопившую «Фотодитазин», относительно ткани, в которую препарат не проник (рис. 1).

Во время операций брали биоптаты из разных участков опухоли, в зависимости от степени флюоресценции «Фотодитазина», которые затем подвергали гистологическому исследованию.

В течение суток после операции больной находился в темных очках для предотвращения фотохимического ожога сетчатки.

Статистическую обработку данных осуществляли при помощи пакета статистических программ Statistica 10 (StatSoft Inc., США). Для непрерывных переменных была рассчитана медиана и квартили (LQ; UQ). Качественные переменные представлены в виде абсолютного числа наблюдений. Парное сравнение зависимых выборок осуществляли по критерию Уилкоксона. Сравнение независимых групп по количественному признаку проводили с использованием критерия Стьюдента. Согласно принципу Боннферрони, при множественных сравнениях статистически значимыми принимали значения при $p < 0,01$. Исследование было одобрено Этическим комитетом при РНХИ им. проф. Поленова филиала ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А.Алмазова» МЗ РФ и выполнено в соответствии с принципами Хельсинкской декларации.

Результаты. Эффективность флюоресцентной диагностики оценивали по следующим показателям: по результатам сопоставления данных визуальной оценки флюоресценции и морфологического исследования флюоресцирующих и не флюоресцирующих тканей; сопоставления данных магниторезонансной томографии (МРТ) с контрастированием с результатами интраоперационной флюоресценции; по особенности распределения и накопления «Фотодитазина» в опухолевой и нормальной ткани головного мозга в зависимости от морфологического диагноза.

Больные были разделены на 4 группы в зависимости от степени злокачественности опухоли, согласно классификации ВОЗ от 2016 г. [10]. Распределение пациентов в этих группах показано в табл. 1.

Распределение пациентов по Grade в группах (по гистологической классификации ВОЗ) следующее: Grade I: 2 (100%) — пилоцитарные астроцитомы; Grade II: 2 (40%) — фибриллярно-протоплазматические астроцитомы, 2 (40%) — олигоастроцитомы, 1 (20%) — олигодендроглиома; Grade III: 6 (66,7%) — анапластические астроцитомы, 1 (11,1%) — анапластическая олигодендроглиома, 2 (22,2%) — анапластические олигоастроцитомы; Grade IV: 13 (86,7%) — глиобластомы, 2 (13,3%) — глиосаркомы.

Для визуальной оценки интенсивности флюоресценции использована 4-балльная шкала: 0 (–) — отсутствие видимой флюоресценции, 1 (+) — слабо-красное свечение, 2 (++) — красное свечение, 3 (+++) — ярко-красное свечение (табл. 2).

При исследовании связи между степенью злокачественности опухоли и интенсивностью видимой флюоресценции выявлена корреляция между данными параметрами ($p < 0,05$). Видимая флюоресценция значительно чаще наблюдалась

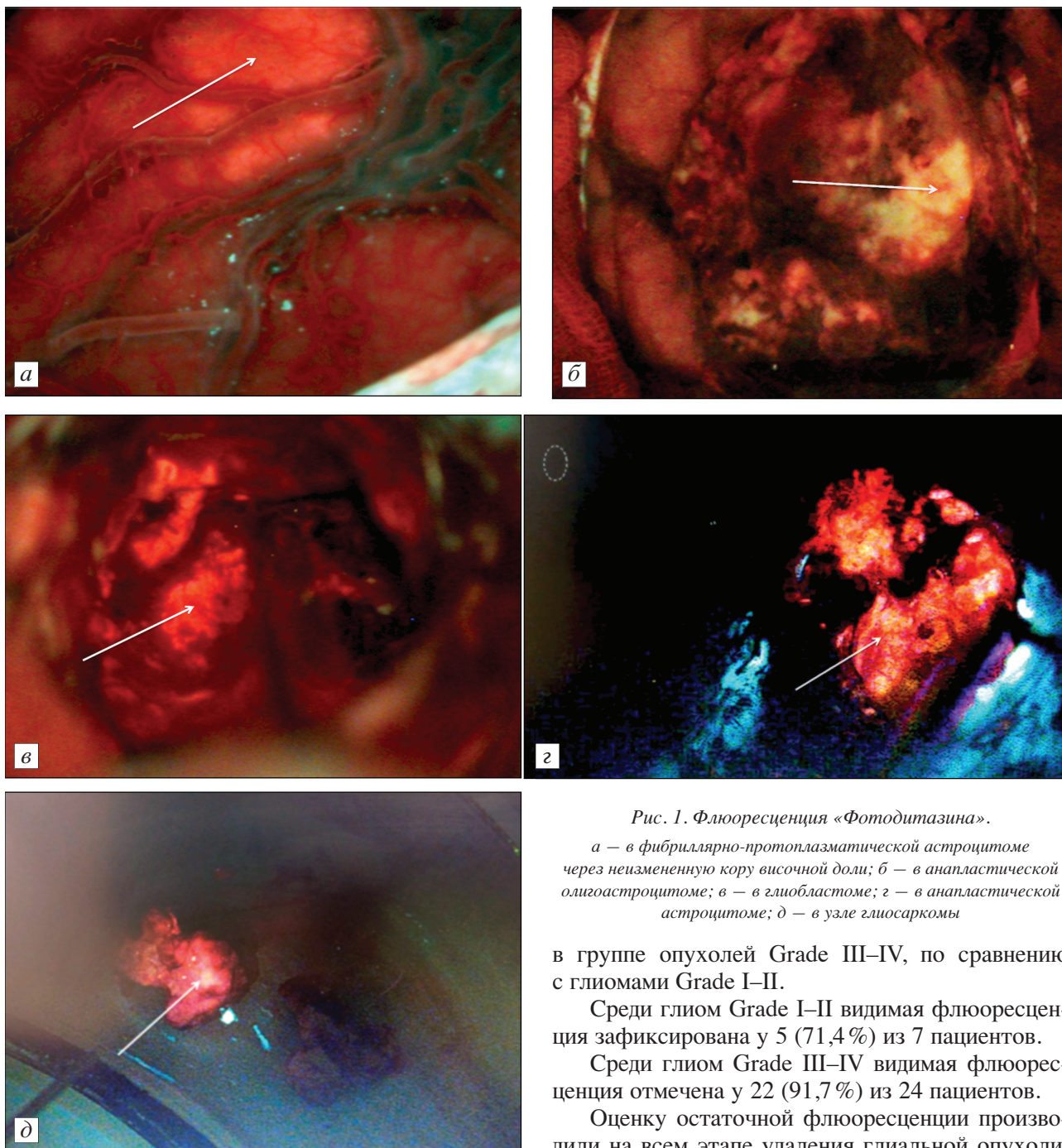


Рис. 1. Флюоресценция «Фотодитазина».

а – в фибриллярно-протоплазматической астроцитоме через неизмененную кору височной доли; *б* – в анапластической олигоастроцитоме; *в* – в глиобластоме; *г* – в анапластической астроцитоме; *д* – в узле глиосаркомы

в группе опухолей Grade III–IV, по сравнению с глиомами Grade I–II.

Среди глиом Grade I–II видимая флюоресценция зафиксирована у 5 (71,4%) из 7 пациентов.

Среди глиом Grade III–IV видимая флюоресценция отмечена у 22 (91,7%) из 24 пациентов.

Оценку остаточной флюоресценции производили на всем этапе удаления глиальной опухоли. Данные анализировали по интраоперационной видеозаписи оперативного вмешательства. У 31% отмечена остаточная флюоресценция. Операция была продолжена до исчезновения видимой флюоресценции у 5% пациентов. Расширение зоны резекции у остальных пациентов признано нецелесообразным в связи с распространением опухоли на функционально значимые зоны. При увеличении объема резекции по данным остаточной флюоресценции неврологических нарушений не отмечено.

При сравнительном анализе интенсивности видимой флюоресценции глиом Grade II с глио-

Таблица 1

Результаты флюоресцентной диагностики в зависимости от Grade

Grade	Флюоресценция	
	положительная	отрицательная
I (n=2)	1 (50%)	1 (50%)
II (n=5)	4 (80%)	1 (20%)
III (n=9)	8 (88,9%)	1 (11,1%)
IV (n=15)	14 (93,3%)	1 (6,7%)

Таблица 2

Результаты оценки визуальной интенсивности в зависимости от Grade

Grade	Интенсивность флюоресценции, баллы				Итого
	0	1	2	3	
I	1	—	1	—	2
II	1	1	2	1	5
III	1	1	1	6	9
IV	1	—	1	13	15
Всего	4 (12,9%)	2 (6,5%)	5 (16,1%)	20 (64,5%)	31 (100%)

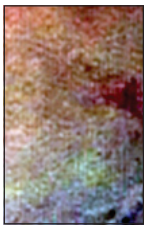
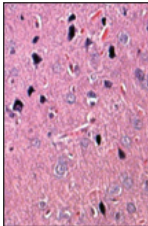
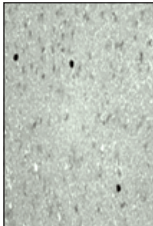
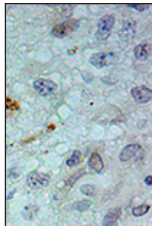
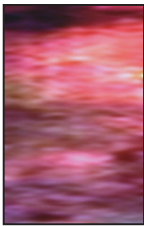
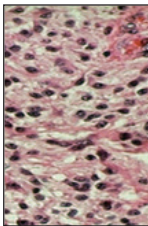
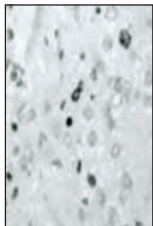
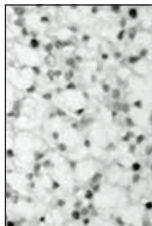

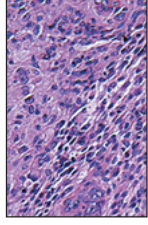
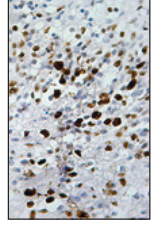
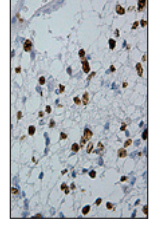
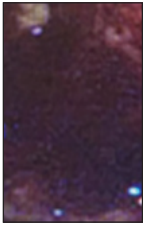
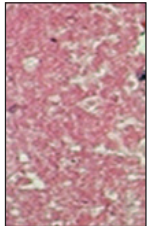
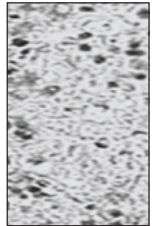
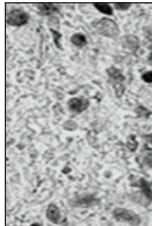
	Флюоресценция фотодитазина	Интенсивность флюоресценции	Гистология	Ki-67	%	p53	Иммуно-позитивность
Нормальный мозг		—			0		—
Зона клеточной инфильтрации		++			14		++
Компактная часть опухоли		+++			31		+++
Некроз		—			1		+

Рис. 2. Сравнительный анализ флюоресценции «Фотодитазина» с результатами морфологического исследования

мами Grade III и Grade IV, Grade III и Grade IV с помощью метода дисперсионного анализа и t-критерия Стьюдента выявлено статистически значимое различие между глиомами Grade II — Grade III и Grade II — Grade IV ($p=0,003$).

При сравнительном анализе видимой флюоресценции с данными предоперационной МРТ с контрастированием получена прямая корреляция ($p<0,01$) со степенью злокачественности глиомы. Чем выше злокачественность, тем больше сте-

пень контрастирования по данным МРТ, тем ярче видимая флюоресценция во время операции.

При сравнительном анализе видимой флюоресценции с данными гистологического исследования (Ki-67, p53), выявлена достоверная корреляция со степенью злокачественности глиомы. Более яркая флюоресценция отмечена при глиомах Grade IV, слабая флюоресценция в большей степени отмечена у низко злокачественных глиом (рис. 2).

Исследования различных участков глиобластомы в зависимости от степени флюоресценции в сравнительном анализе с гистологическими результатами показали, что зоне некроза опухоли соответствовало отсутствие флюоресценции (94,7%) либо имелась очень слабая флюоресценция (4,1%). Очень яркая флюоресценция выявлена в зоне инфильтрации опухоли (91,5%). В солидной части опухоли видимая флюоресценция определялась в 83,3% случаев.

Анализ результатов иммуногистохимического исследования срезов флюоресцентно-негативных и флюоресцентно-позитивных глиальных опухолей разной степени злокачественности (Grade II — Grade IV) показал прямую корреляцию различия в количественном содержании белковых маркеров Ki-67 (MIB-1) и P53 (TP53). Для флюоресцентно-позитивных глиом, характерна более высокая скорость пролиферации и меньшая степень дифференцировки, более высокая злокачественность (табл. 3).

Чувствительность и специфичность метода составила, соответственно, при Grade I–II 68,3% и 60,1%; при Grade III–IV 85,4% и 76,2%. Оценка чувствительности и специфичности метода в сопоставлении с биоптатами глиальных опухолей представлена в табл. 4.

Наибольшую накопительную способность при глиомах низкой степени злокачественности продемонстрировали олигодендроглиомы, фибриллярно-протоплазматические астроцитомы, глиомы с наличием кистозного компонента.

Степень достижения GTR (gross total resection — удаления не менее 90% контрастирующейся части опухоли по данным МРТ, выполненной в течение первых 24 ч после операции) при использовании интраоперационной флюоресцентной навигации с «Фотодитазином» (табл. 5).

Таким образом, степень достижения GTR при хирургическом лечении глиом Grade I–II равна 79,3%, для Grade III–IV — 95,6%.

Таблица 3

Распределение видимой флюоресценции для биоптатов тканей глиальных опухолей разной степени злокачественности (Grade II–IV)

Характеристики	Флюоресценция		p
	негативная	позитивная	
Число пациентов	4 (100%)	27 (100%)	–
МРТ :			<0,0001
нет	2 (50%)	4 (14,8%)	
Неоднородное или слабое	1 (25%)	7 (25,9%)	
только в центре	1 (25%)	16 (59,3%)	
Grade :			<0,0001
II	1 (25%)	4 (14,8%)	
III	1 (25%)	10 (37%)	
IV	2 (50%)	13 (48,2%)	
Гистологические данные :			<0,0001
митозов нет	3 (75%)	2 (7,5%)	
митозов мало	1 (25%)	12 (44,4%)	
митозов много	0 (0%)	13 (48,1%)	
Ядерный полиморфизм :			<0,0001
низкий	2 (50%)	2 (7,4%)	
средний	1 (25%)	17 (63%)	
высокий	1 (25%)	8 (29,6%)	
Пролиферация сосудов :			–
нет	4 (100%)	22 (81,5%)	
есть	0 (0%)	5 (18,5%)	
Некрозы :			–
есть	3 (75%)	24 (88,9%)	
нет	1 (25%)	3 (11,1%)	
Ki-67(MIB-1)	4,8±3,3	16,8±5,1	<0,0001
p53 (TP53)	Отрицательный	От + до +++	<0,0001

Таблица 4

Чувствительность и специфичность метода видимой флюоресценции в сопоставлении с множественными биопсиями глиальных опухолей разной степени злокачественности

Видимая флюоресценция	Чувствительность (биоптат с опухолью)	Специфичность (биоптат с интактной тканью)
Grade II	8 из 11 (72,7%)	2 из 5 (60%)
Grade III	15 из 18 (83,3%)	2 из 6 (66,7%)
Grade IV	21 из 24 (87,5%)	1 из 7 (85,7%)

Примечание. Чувствительность (в %) равна числу флюоресцентно-положительных биоптатов с опухолевой тканью, деленному на общее число биоптатов без опухоли и умноженному на 100; специфичность (в %) равна 1 минус (число флюоресцентно-положительных биоптатов с интактной тканью мозга без признаков опухоли, деленное на общее число биоптатов с интактной тканью мозга без признаков опухоли) и умноженному на 100.

Обсуждение. Это исследование доказывает эффективность использования флюоресцентно-контролируемой резекции глиом головного мозга, что позволяет добиваться более высокой резектабельности, от которой зависит прогноз выживаемости и длительность безрецидивного периода у больных данной категории. Использование флюоресценции с «Фотодитазин» позволяет хирургу более точно интраоперационно дифференцировать края глиомы. Проведенный мета-анализ опубликованных данных также указывает на высокую эффективность данной методики в хирургическом лечении глиом [5, 11].

Выводы. 1. Метод флюоресцентной диагностики с использованием отечественного препарата «Фотодитазин» безопасен для пациентов с глиомами головного мозга при условии соблюдения критериев отбора и ограничений светового режима в течение суток в послеоперационном периоде.

2. Использование флюоресцентной навигации при хирургическом лечении глиальных опухолей головного мозга супратенториальной локализации позволяет уточнить не только размеры и место кортикотомии, но и пути распространения опухоли, определить границы резекции.

3. Интраоперационная флюоресцентная диагностика с использованием «Фотодитазина» в хирургическом лечении глиальных опухолей различной гистологической структуры высокоэффективна, что позволяет повысить радикальность хирургического удаления глиальных опухолей.

Сведения об авторах:

Рында Артемий Юрьевич (e-mail: artemii.rynda@mail.ru), аспирант отделения нейроонкологии; Ростовцев Дмитрий Михайлович (e-mail: dok79@mail.ru), д-р мед. наук, зав. отделением; Олюшин Виктор Емельянович (e-mail: Fed_56@mail.ru), д-р мед. наук, проф. отделения нейроонкологии; Забродская Юлия Михайловна (e-mail: zabrudskaja@yandex.ru), д-р мед. наук, зав. научно-исслед. лаб. пат. анатомии; Российский нейрохирургический институт им. проф. А.Л. Поленова, 191014, Санкт-Петербург, ул. Маяковского, 12.

Таблица 5

Степень достижения GTR при использовании интраоперационной флюоресцентной навигации с «Фотодитазин»

Grade	GTR
II (n=5)	81,1%
III (n=9)	93,8%
IV (n=15)	97,5%

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCE]

- Acerbi F., Broggi M., Eoli M. Fluorescence-guided surgery for grade IV gliomas with a dedicated filter on the surgical microscope : preliminary results in 12 cases // *Acta Neurochir.* 2013. № 155. P. 1277–1286.
- Chen B., Wang H., Ge P. Gross total resection of glioma with the intraoperative fluorescence-guidance of fluorescein sodium // *Int. J. Med. Sci.* 2012. № 9. P. 708–714.
- Chung I.W., Eljamel S. Risk factors for developing oral 5-aminolevulinic acid-induced side effects in patients undergoing fluorescence guided resection // *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2013. № 10. P. 362–367.
- Della Puppa A., de Pellegrin S., d'Avella E. 5-aminolevulinic acid (5-ALA) fluorescence guided surgery of high-grade gliomas in eloquent areas assisted by functional mapping. Our experience and review of the literature // *Acta Neurochir.* 2013. № 155. P. 965–972.
- Eljamel S., Michael R. 5-ALA fluorescence image guided resection of glioblastoma multiforme : a meta-analysis of the literature // *Int. J. Mol. Sci.* 2015. Vol. 16, № 5. P. 10443–10456.
- Jaber M., Wolfer J., Ewelt C. The value of 5-aminolevulinic acid in low-grade gliomas and high-grade gliomas lacking glioblastoma imaging features : an analysis based on fluorescence, magnetic resonance imaging, 18F-fluoroethyl tyrosine positron emission tomography, and tumor molecular factors // *Neurosurgery.* 2016. Vol. 78, № 3. P. 401–411.
- Jacquesson T., Ducray F., Maucourt-Boulch D. Surgery of high-grade gliomas guided by fluorescence : a retrospective study of 22 patients // *Neurochirurgie.* 2013. № 59. P. 9–16.
- Kaneko S. Fluorescence-guided resection of malignant glioma with 5-ALA // *Int. J. Biomed. Imaging.* 2016. Vol. 11, № 2. P. 1–11.
- Liu J.T., Meza D., Sanai N. Trends in fluorescence image-guided surgery for gliomas // *Neurosurgery.* 2014. Vol. 75, № 1. P. 61–71.
- Louis D.N. World Health Organization Histological Classification of Tumours of the Central Nervous System. Lyon, France : International Agency for Research on Cancer, 2016.
- Su X., Huang Q.F., Chen H.L., Chen J. Fluorescence-guided resection of high-grade gliomas : a systematic review and meta-analysis // *Photodiagn. Photodyn. Ther.* 2014. № 11. P. 451–458.
- Valdes P.A., Kim A., Brantsch M. Delta-aminolevulinic acid-induced protoporphyrin IX concentration correlates with histopathologic markers of malignancy in human gliomas : the need for quantitative fluorescence-guided resection to identify regions of increasing malignancy // *Neuro Oncol.* 2011. № 13. P. 846–856.

Поступила в редакцию 03.05.2017 г.